Coscinodiscus wailesii Gran の栄養要求

本田恵二

The Nutrient Requirements of Coscinodiscus wailesii Gran

Keiji Honda

The great diatom *Coscinodiscus wailesii* Gran occurring mainly from autumn to following spring in the Seto Inland Sea is considered to be one of the growth-inhibiting species of Nori(*Porphyra*) by removing much nutrient salts such as inorganic nitrogen in the sea water. In this study, the growth response of *C.wailesii* to various nutrient salts and the effect of N:P ratio in the seawater were examined using bioassay. The cultures were incubated at 22 ± 0.5 °C with fluorescent light of $50~\mu$ mol/ m²/s under a light/dark cycle of 12h/12d.

As a result, it was found that high concentration of inorganic nitrogen and phosphorus were indispensable for the propagation of *C.wailesii* in the sea water. Phosphorus was likely to be more growth-limiting factor than nitrogen, especially in case the concentration of PO_4 -P was below 0.3 μ g -at/ L . Besides sufficient N and P, trace elements such as P II metal mixture were also needed for their growth in large quantities. In addition, according to the result of enrichment test by each addition of P II metal elements, B (asH₃BO₃) was remarkably effective, enhanced the growth of *C.wailesii*. However supplement of vitamin mixture was found ineffective.

On the other hand, *C.wailesii* showed relatively high maximum cell yield and specific growth rate in the media with N:P ratios ranging from 9 to 17. These results coincided well with the fact that *C.wailesii* was often observed in the sea water at the same N:P ratios from October to November in 2003 and 2004.

Therefore, it was presumed that N:P ratios of about 9 to 17 in the sea water was favorable for the propagation of *C.wailesii* in autumn.

キーワード: Coscinodiscus wailesii, 栄養塩添加試験, 増殖制限要因, N:P 比

香川県のノリ養殖業の生産金額はここ 10 年間,約59~123億円で推移しり,海面養殖業の生産額の約30~40%を占める重要な産業として位置づけられている。ところが,近年珪藻類を中心としたプランクトンの大量発生により,漁場によっては海水中の溶存態無機態窒素 (DIN) が急激に減少し,ノリの色落ちを引き起こしたりあるいは助長する傾向が見られ,ノリ養殖業に多大な影響を与えている。

そうしたノリ養殖被害原因藻とされる珪藻類の一つに Coscinodiscus 属の種がある。なかでも大型種の Coscinodiscus wailesii Gran は 1980 年代から播磨灘北部沿岸で大量に発生し、深刻な被害をもたらしている²⁾。

香川県のノリ漁場においても毎年 Coscinodiscus 属の種が出現しているが、C. wailesii に関するデータの蓄積が少なく、本種がどの程度ノリの色落ちに関与していたか明らかではない。本種による色落ち被害の軽減を図るためにも C. wailesii を対象とした基礎的知見を得ることは重要と思われる。

播磨灘における C. wailesii の発生機構や生理・生態 等に関しては、次のような知見が得られている。

本種は秋期と春期にまとまって出現するが³,海底の嫌気状態の進行および暗黒条件により栄養細胞から休眠細胞への形成が誘引され⁴,海底泥中の休眠細胞は暗黒条件下で長期間生存して,増殖に適した条件下で

すみやかに栄養細胞に復活・増殖し 5 (6),秋期の播磨 灘における同種のブルーム形成に大きな役割を果たし ていること 7),また,休眠細胞が検出される時期であ る春から夏期の水温の積算値と秋期の発生量に負の相 関関係があることを見出し,同種の秋期発生量の予察 がある程度可能とした 8 (8)。

C. wailesii の増殖と水温,塩分,光強度との関係については,これまで本種は増殖可能な温度・塩分範囲が広い種であり、水温が $10\sim25$ では現場海域の塩分範囲において高い増殖速度を維持できること 9)、冬期の $12\sim1$ 月に細胞密度が減少するのは、水温の低下よりも日射量の低下が主に作用していること 10 が報告されている。

また、C. wailesii の増殖に及ぼす栄養塩の影響についても詳細に検討され、春期のブルームの終息には、栄養塩のなかで特にリン酸態リンと珪酸態珪素濃度の低下が大きく関与していること 111 が示された。

しかしながら,近年、海水の鉛直混合開始後の栄養塩が豊富にある時期に C. wailesii が大量に発生しない年が認められたり ¹²⁾,先述の秋期の発生量予測でも積算水温と細胞密度が明確に対応していない年もあり, C. wailesii の発生予察の精度を高めるための課題が残されている。

そこで今回 C. wailesii 発生予察の一助とするため、 栄養塩添加による C. wailesii の培養実験を行い、本種 の基本的栄養要求並びに増殖応答について検討したの で報告する。

材料および方法

栄養塩が豊富にあるにもかかわらず、本種の大量発生が抑止される要因について検討するため、C. wailesii が基本的にどのような栄養要求をしているか、環境水(海水)中のN:P(DIN:DIP)比に着目し、これがC. wailesii の増殖速度および増殖収量にどの様な影響を与えているかを把握するため培養実験を行った。

(1) 供試株、供試海水、培養操作

C. wailesii の培養株 (蓋殼径平均 280 μ m、側筒長平均 90 μ m) は 2003 年 4 月 14 日に播磨灘の調査定点K 4 (Fig. 1) で採取し、ピペット洗浄法により単離・無菌化した後、M P 1 培地 13 に準じた基本培地(Table 1)で継代培養したもので、これを供試株とした。

培地調製に供した海水は培養株と同じく 4月 14日にK 4 (表層) で採取し, グラスファイバーフィルター (WhattomanGF/C) およびメンブレンフィルター (ミリポア社、孔径 0.45 μ m) で濾過し, 培地は滅菌処理 (120 \mathbb{C} 、10 分) した。培養器は 6 ウェ

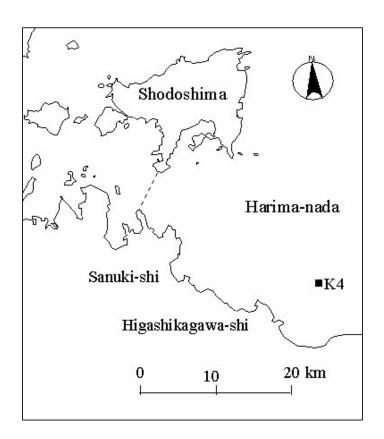


Fig.1. Location of sampling site K4 in Harima-nada.

Table 1. Composition of basal medium (modified MP1) for the pre-culture of *Coscinodiscus wailesii*

substance	quantity	concentration in the medium
• NaNO ₃	20mg	about 260μg-atN/L 💥
• K_2HPO_4	1.7mg	about 10μg-atP/L 💥
• NaHCO ₃	100mg	
• Na ₂ SiO ₃ • 9H ₂ O	80mg	about 280μg-atSi/L 💥
• Tris	1,000mg	
•PⅡmetal mixture	1mL	
 Vitamin mixture 	10mL	
 Filtered sea water 	1,000mL	

** Concentration b • P II metal mixture		easurement • Vitamin mixture	1000mL
FeCl ₂ • 4H ₂ O	0.33g	Thiamine • HCl	50mg
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.43g	Nicotic acid	10mg
ZnCl ₂	31.1mg	Ca-panthenate	10mg
CoCl ₂	6.5mg	P-Aminobenzoic acid	1mg
CuSO ₄ • 5H2O	5mg	Biotin	0.1mg
H_3BO_3	3.4g	i-Inositol	500mg
$Na_2MnO_4 \cdot 2H_2O$	0.13g	Folic acid	0.2mg
EDTA • 2Na • 2H ₂ O	3g	Thymine	300mg
Distilled Water	1000mL	Cyanocobalamin	0.02mg
		Distilled Water	1000mL

 $10\sim15$ cells/well で接種した。そして外部からの雑菌混入等を防ぐため培養器の蓋をビニールテープで密閉し、C.wailesii の増殖が定常期に達するまで、細胞数を実体顕微鏡下でほぼ毎日計数した。培養期間中,奇形は見られなかったため特に形態観察は行わなかった。培養操作についてはできる限り無菌的に行うよう配慮したが、無菌検査は行わなかった。なお、培養条件は海水の鉛直混合期である秋期を想定し、温度 22.0 ± 0.5 °C,明暗周期 12 L:12 D,光度約 50 μ mol/ m/s とした。

(2) 基本的栄養要求実験

I 栄養塩添加実験

基本培地を組成する各成分の添加で, C.wailesii の増殖にどのような差が生じるかを把握するため, Table2 に示す試験区を設定し, 各試験区ごとに 3 ウエルで培養を行った。そして細胞密度は 3 ウエルの平均値で表した。

Ⅱ PⅡ金属添加効果確認実験

P II 金属の添加効果を確認するため、Table 2 に示した N, P, N + P添加区を 2 ウェルずつ設定して培養試験を行った。

Table 2. Each nutrient combination based on composition of basal medium for enrichment test

(1)+N	(6) + N + P + P II
(2) + P	(7) + N + P + V
(3)+P II metal mixture	(8)+N+P+P II metals + V itamin
(4)+∨itamin	(9) CONTROL (SW+NaHCO3+Na2SiO3+TRIS)
(5) + N + P	(10)Basal medium

Ⅲ PⅡ金属組成成分添加実験

PI金属組成のうち、どの成分が C. wailesii の増殖に効いているのか詳細に調べるため、基本培地からPI金属(EDTA・2 N a のみ残す)及びビタミン混液を除いた培地(コントロール)に各成分(Table3)を単独に添加(3 ウエルずつ)して培養を行い、10 日後の細胞収量で比較した。

Table 3. Each additive based on composition of PII metal mixture for enrichment test

(1) +Mo (Na ₂ MnO ₄ .2H ₂ 0)	(5) +Zn (ZnCl ₂)		
(2) +B (H ₃ BO ₃)	(6) +M n (MnCl ₂ · $4H_20$)		
(3) +Cu (CuSO ₄ .5H ₂ O)	(7) + Fe (FeCl ₂ • $4H_20$)		
(4) +Co $(CoCl_2)$			
(8) CONTROL (SW+NaNO $_3$ +K $_2$ HPO $_4$ +NaHCO $_3$ +Na $_2$ S i O $_3$ +TR I S+EDTA • 2Na • 2H $_2$ O)			

IV N:P比(DIN:DIP比)別実験

本県播磨灘海域における秋期のDIN濃度(NH $_4$ - N + NO $_3$ - N + NO $_2$ - N)のほぼ最高値を想定して、先述の貧栄養海水にDINが約 20 μ g -at/L,

PO $_4$ - Pが 0.18(無添加), 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 μ g -at/ L になるように栄養塩を添加した。

なお、実験培地は各N:P比別に3ウエルずつとし、 C.wailesii の栄養塩の摂取量は、培養前後の各培地中 の栄養塩の濃度差を求め、3ウエルの平均値で示し た。

(3) 栄養塩の分析

本研究に係る栄養塩の分析は,栄養塩自動分析装置(TrAAcs800,Bran+Luebbe 社)で行った。

(4) C.wailesii の増殖速度の解析

培養中の C.wailesii の増殖速度 (μ) は,理論曲線の対数増殖期の変曲点の接線の傾きを求め次式により求めた。

 $\mu = 1/t * \log_2(Nt/No)$

μ:対数期増殖速度,N t:t 日後の細胞数,

N₀:最初の細胞数, t:経過日数

結 果

I 栄養塩添加実験

培養実験の結果を Fig.2 に示す。培養を開始して 9 日後, C. wailesii は N + P + P II 金属添加区で N + P + P II 金属 + Vitamin 添加区 (基本培地) とほぼ同様 の高い増殖応答 (1,135cells/well) を示し, P, N + P, N + P + Vitamin 添加区である程度増殖効果 (184 ~

cells/well

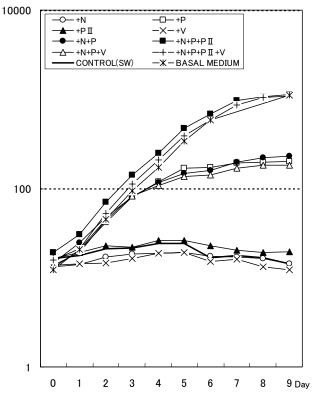


Fig.2. Growth of *Coscinodiscus wailesii* by sole or Combined addition of each nutrient salt in the basal medium to the sea water.

230cells/well) が見られた。

一方、N、Vitamin、P II 金属各単独添加区ではほとんど増殖効果が見られず、Nと Vitamin 添加区については概ねコントロールよりも増殖応答が低かった(12~20 cells/well)。

Ⅱ PⅡ金属添加効果確認実験

当初,約10 cells/well の細胞密度で培養を開始して2週間後,P,N+P添加区でC. wailesii の増殖が対数期を経て定常期に達した $(170 \sim 190 \text{cells/well})$ ので、ここでP II金属を各培地に添加したところ,N+P添加区で約800 cells/well (2 ウェル平均) と高い増殖効果が見られた。一方、N 単独添加区では細胞収量は20 \sim 30 cells/well 程度で、それ以上増殖せず,P II金属の添加効果も見られなかった (Fig.3)。

以上から C. wailesii の増殖にはNよりもPの供給が重要で,特に大量発生となると,高濃度のN+Pだけでは不十分で,その他にPII 金属等の微量元素が必須であることが示唆された。

Ⅲ PⅡ金属組成成分添加実験

培養 10 日後, B (ホウ酸) と F e の添加区で増殖 効果が見られ, 特に B (ホウ酸) の添加で細胞収量は 約 1,000 cells/well (3 ウエル平均) に達し, 効果的であることが分かった (Fig.4)。

また、Fig.4のコントロールは金属類を加えずEDTA・2Naのみを添加したものであるが、その場合でも約600cells/wellの細胞収量が得られた。その他の添加区の細胞収量はコントロールより少なかった。

IV N: P比 (DIN: DIP 比) の影響

培養実験の結果をFig.5及び6に示す。オートクレー

ブで滅菌後、培地中のN、P濃度に若干の変動があり、結果的にN、Pの添加濃度はそれぞれ 17.96 \sim 24.4 μ g -at/L , 0.122 \sim 1.98 μ g -at/L となり、N:P(モル)比で 178(21.7:0.122)、78(22.3:0.287)、32(24.4:0.761),17(20.27:1.2),12(19.78:1.63),9(17.96:1.98) の 6 段階の設定

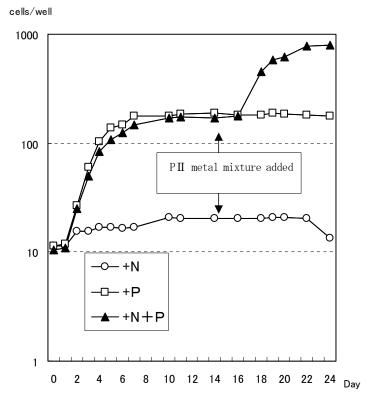
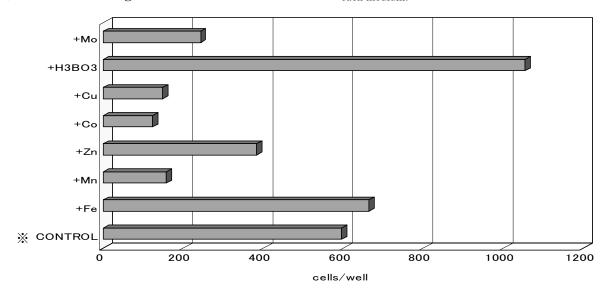


Fig.3. Growth of *Coscinodiscus wailesii* by sole or combined addition of N and P in the basal medium to the sea water. Two weeks after the start of culture, P II metal mixture was added to each medium.



(SW+NaNO₃+K₂HPO₄+NaHCO₃+Na₂SiO₃+TRIS+EDTA · 2Na · 2H₂O)

Fig.4. Comparison of maximum cell yields of *Coscinodiscus wailesii* by addition of each element of P II metal mixture to the modified basal medium free of P II metal mixture and vitamin mixture.

となった。

PO₄- P濃度が高いほど *C. wailesii* の細胞収量が多くなる傾向が見られ,培養開始 10 日後 N: P比 9, 12, 17 の 3 培地で 130 ~ 160 cells/well の細胞収量が得られ, 次いで N: P比 32 で多く (76 cells/well), 78, 178 の N: P比ではそれぞれ 17, 21 cells/well と細胞収量は僅かであった。この 2 つの培地は PO₄- P濃度が 0.28, 0.12 μ g -at/ L と少なく,環境水中の PO₄- P濃度が 0.3

 μ g -at/ Lを下回ると C. wailesii の増殖条件として厳しいことが伺われた (Fig.5)。

また,各培地における C. wailesii の対数期増殖速度 (μ) を求めたところ, N: P比 32 以下で 0.8 以上の速度が得られ,17 (1.32),9 (1.00),12 (0.89),32 (0.86) の順に高く、細胞収量の場合と同様に PO_4 - P濃度が低いと増殖速度が小さくなる傾向が見られた (Fig.6)。

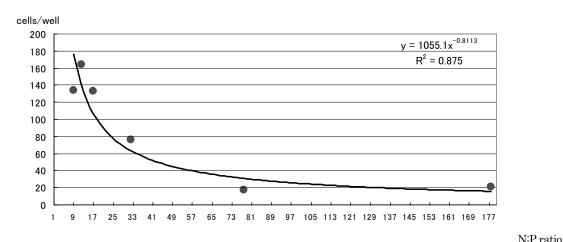


Fig.5. Changes of maximum cell yields of *Coscinodiscus wailesii* as a function of N:P ratios of the media . Concentrations of DIN(μ g-at/L) and PO₄-P(μ g-at/L) in the media and adjusted N:P ratios [] are as follows. 17.96 and 1.98 [9] , 19.78 and 1.63 [12] , 20.27 and 1.2 [17] ,24.4 and 0.761 [32] ,22.3 and 0.287 [78] , 21.7 and 0.122 [178] .

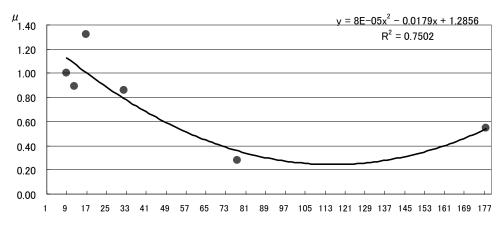


Fig.6. Changes of specific growth rate(μ) of *Coscinodiscus wailesii* as a function of N:P ratios of the media . Concentrations of DIN(μ g-at/L) and PO₄-P(μ g-at/L) in the media and adjusted N:P ratios [] are as follows. 17.96 and 1.98 [9], 19.78 and 1.63 [12], 20.27 and 1.2 [17],24.4 and 0.761 [32],22.3 and 0.287 [78], 21.7 and 0.122 [178].

考 察

(1) 海水中の栄養塩濃度と C. wailesii の増殖制限

まず, 秋期の海水中の栄養塩濃度で C. wailesii の 増殖が直接的に制限されるかどうかについて考えて みたい。

実験結果から C. wailesii の増殖には、十分なNとPが不可欠と思われ、特にPの供給が重要であるこ

とが示唆された。

浅海定線調査結果によると、本県でノリ養殖が行われている海域では、年間の表層のDIN (Fig.7) 及びPO $_4$ - P (Fig.8) 濃度の平年値は、それぞれ 2.8 ~ 9.5 μ g -at/ L 、0.13 ~ 0.75 μ g -at/ L (播磨灘)及び 2.7 ~ 9.2 μ g -at/ L 、0.16 ~ 0.61 μ g -at/ L (備讃瀬戸)で推移し、特に播磨灘では 4 ~ 9 月まで両者とも低い傾向にある。

N:P ratio

今回は $10~\mu$ g -at/ Lを下回る DIN 濃度の設定で実験は行わなかったが,西川ほか(2004) 11)は水温 20[°] 及び 9[°] における C. wailesii の Nに対する半飽和定数を $1.4~\mu$ g -at/ Lと算定し,播磨灘では本種の増殖に及ぼす無機態窒素濃度の影響は小さいとしている。本県の播磨灘及び備讃瀬戸の DIN 濃度も周年この値を上回っており,同様に影響は小さいと思われた。

Pについては本研究で C. wailesii の増殖に厳しい と考えられた $0.3~\mu$ g -at/ Lを下回るのは主に $3\sim$

9月に相当し、ノリ養殖業の盛期でもある $11 \sim 2$ 月は C. wailesii の増殖を律するほどの強い P ストレス環境下にあるとは考えられなかった。また、両海域の表層のS i 濃度の平年値は約 $4 \sim 21~\mu$ g -at/Lで、特に $10 \sim 12$ 月,播磨灘では D I N とともに年間で比較的高い値を示す(Fig.9)。珪藻類の増殖を制限する S i 濃度については種々検討されており、例えば $2~\mu$ g -at/L 16 等,概ね $3~\mu$ g -at/L以下で試算されている。

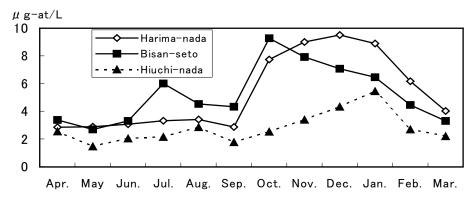


Fig.7. Changes in average concentrations of DIN at the surface layer based on the monthly investigation at 7 stations in Harima-nada, 14 stations in Bisan-seto and 4 stations in Hiuchi-nada. Data were treated by 30 years (1973-2002).

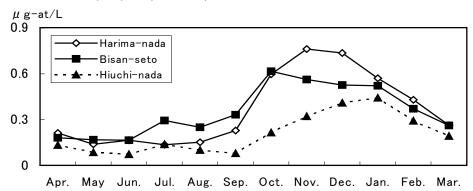


Fig.8. Changes in average concentrations of PO_4 -P at the surface layer based on the monthly investigation at 7 stations in Harima-nada, 14 stations in Bisan-seto and 4 stations in Hiuchi-nada. Data were treated by 30 years (1973-2002).

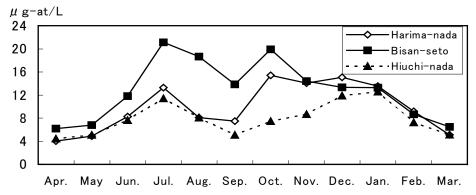


Fig.9. Changes in average concentrations of SiO₂-Si at the surface layer based on the monthly investigation at 7 stations in Harima-nada, 14 stations in Bisan-seto and 4 stations in Hiuchi-nada. Data were treated by 30 years (1973-2002).

したがって、C. wailesii と競合するその他の珪藻類の発生量にもよるが、本県の播磨灘及び備讃瀬戸海域において、秋期の海水中の栄養塩濃度でC. wailesii の増殖が直接的に制限されるとは考え難い。

(2) C. wailesii の栄養要求と大量発生の予測

C. wailesii の N,P 利用特性について,西川ら $(2004)^{-11}$ によれば P O $_4$ - P 濃度が約 $50~\mu$ g-at/L の条件下では三態窒素のなかで N O $_2$ - N添加による増殖効果が最も大きく,次いで N O $_3$ - N、N H $_4$ - Nの順に増殖量が多かったとしている。今回の実験では P O $_4$ - P 濃度が $0.3~\mu$ g-at/L を下回ると N O $_3$ - N + N O $_2$ - N はほとんど利用されず,むしろ N H $_4$ - N が多く利用されており,C. wailesii が P O $_4$ - P 濃度によって N 源を選択的に利用することが伺われた。

一方, 秋期における C. wailesii の大量発生の際には、十分な N、 P の他に、その他の微量成分が不可欠と考えられた。ただし、微量成分のうちビタミン類(特に B 12)については、同じ珪藻類 の Skeletonema costatum(Greville)Cleve や Rhizosolenia setigera Brightwell の増殖に必須とされる 17 のに対し、ビタミン類に対する増殖応答は実験結果によれば低く、本種のビタミン類の要求度はそれほど高くないと思われた。

すなわち、今回の結果に沿えば、本種の大量発生を促す要因として微量金属成分、なかでもホウ酸、鉄、キレーターの存在が重要と考えられたが、兵庫県(1998) 18 は P II 金属から目的とする各成分を除いて行なった増殖速度の比較実験(温度 23 $\mathbb C$ 、光度 $130~\mu$ mol/ $\mathbf m$ / $\mathbf s$)で、鉄と特にマンガンの

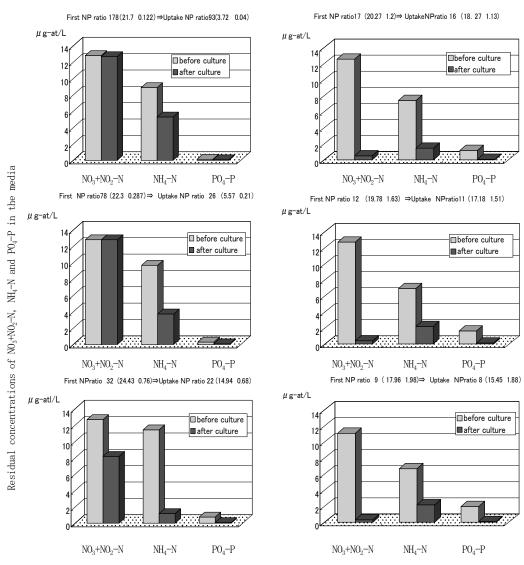


Fig.10. DIN and PO₄-P uptake by *Coscinodiscus wailesii* in the media with N:P ratios of 178,78,32,17,12 and 9. Vertical axis in the graph indicates residual nutrient concentrations in the media. Nutrient concentrations before and after the culture are indicated as and respectively.

効果が顕著であることを報告し,ホウ酸の効果については重要視していない。

また、ホウ酸の珪藻類の増殖に及ぼす影響について、鶴田ら(1987)¹⁹⁾ は人工海水による Skeletonema costatum の培養実験でホウ酸の必要性を指摘しながらも、天然海水にはホウ酸がある程度含まれていることから同種の制限要因にはならないとしている。

こうした増殖応答の差の原因として,実験に供した培地のベースとなる海水,培養条件,そして珪藻の種類(株)等が考えられたが,C. wailesii に及ぼす微量金属の影響については,さらに人工海水による詳細な検討が必要と思われた。

いずれにしても、C. wailesii の大量発生を予測するうえで、発生時期直前の9月下旬頃の海水(特に灘部では鉛直混合が始まる直前の底層の海水)でC. wailesii を対象にAGP (algal growth potential) 試験を行い、その海水の増殖能を大量発生のあった年となかった年で比較してみるのも一つの有効な手段と考えられた。

(3) 海水中のN: P比と C. wailesii の増殖

N: P比別培地による培養実験で, C. wailesii の 細胞収量が比較的多かった 3 種類の培地では, 当初 の N: P比 (9,12,17) と培養後 C. wailesii に摂取された N, P量の比(8,11,16)がそれぞれ近似しており, これらの培地では, C. wailesii により N, Pがバランスよく消費されていたことが伺われた(Fig.10)。

西島ら(1993)²⁰⁾は Skeletonema costatum による 半連続培養実験から,同種が制限された栄養塩を節 約し,非制限の栄養塩を多く摂取した結果,細胞内 のN: P比が培養液のN: P比に類似したと結論づ けている。

本実験はバッチ培養で行ったが、ある程度以上の栄養塩があれば C. wailesii についても同様の結果が生じるものと推測された。また、 Coscinodisucus属の細胞内のNP含量比については、 Coscinodisucussp. で 15^{21} , C. wailesii で 11.5^{22} と試算されており、C. wailesii の増殖に最適な細胞内のNP含量比を $11\sim15$ と仮定すると、Fig.5 および 6 の増殖応答の結果によく当てはまる。つまり、C. wailesii 単独で考えた場合、秋期に海水中のN:P比が $9\sim17$ であれば、N、Pに関する栄養環境としては C. wailesii の増殖に適当と推測された。

ちなみに 平成 $15\sim 16$ 年度, 2 ヵ年分のノリ漁 場調査結果のうち, $10\sim 11$ 月における漁場の海水中の N: P 比と C. wailesii の出現密度との関係を Fig.11 に示す。 N: P 比が $9\sim 17$ の範囲外で C. wailesii の出現も若干見られるものの, 概ねこの N: P

P比の範囲内で出現しており、先の推測とよく符合した。ただ、実験に供する C. wailesii の株や照度及び温度等の培養条件によって状況が変わることも想定されることから、海水中のN: P比と C. wailesii の増殖の関係については、有機態N, Pの影響も含めて今後さらに検討を要する。

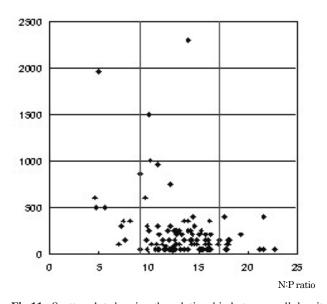


Fig.11. Scatter plot showing the relationship between cell density of Coscinodiscus wailesii versus N:P ratios in the sea water during the period of October to November in 2003 and 2004.

謝辞

本研究をとりまとめるにあたり、御指導、御校閲を 賜った香川県赤潮研究所顧問 岡市友利博士,小野知足 博士に厚く御礼申しあげる。

また,文献の収集等で御協力を賜った瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部 長井敏博士,兵庫県立農林水産技術総合センター水産技術センター 西川哲也主任研究員に深く感謝する。

そして, 試料採取等にあたって海上作業に協力いた だいた香川県漁業指導調査船「やくり」の乗組員各位 に御礼申しあげる。

引用文献

- 1)香川農林統計協会:2001-2005,香川水産統計年報.
- 2) 眞鍋武彦・長井敏・堀豊:1994, 厳しさを増す沿岸 漁業. 水産と環境 (清水誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.9-18.
- 3) 岡山県・香川県・徳島県・兵庫県:1999, 平成10年度

- 赤潮対策技術開発試験 瀬戸内海東部海域広域共同調査 (冬期調査) 報告書. 4-5.
- 4) Nagai, S. & I. Imai: 1999, Factors including resting-cell formation of *Coscinodiscus wailesii* Gran(Bacillariophyceae) in culture. Plankton Biol. Ecol., 46, 94-103.
- 5) 長井敏・掘豊・眞鍋武彦・今井一郎: 1995, 播磨灘 海底泥中から見いだされた大型珪藻 Coscinodiscus wailesii Gran 休眠細胞の形態と復活過程. 日水誌, 61(2), 179-185.
- 6) 長井敏・今井一郎: 1999, 大型珪藻 Coscinodiscus wailesii の休眠細胞の形成, 生存および復活に及ぼす培養諸条件の影響. 日本プランクトン学会報, 46, 143-151.
- 7) Nagai S., Y. Hori, K. MiyaHara, T. Manabe & I. Imai: 1996, Population dynamics of *Coscinodiscus wailesii* Gran(Bacillariophyceae) in Harima-nada, Seto Inland- Sea, Japan. In"Pro. 7th Int. Con. On Toxic Phytoplankton", (eds. Yasumoto T., Y. Oshima & Y. Fukuyo), Sendai, pp. 239-242.
- 8) 長井敏: 1995, 播磨灘産の大型珪藻 Coscinodiscus wailesii Gran の生活環と生態に関する研究. 京都大学博士論文, 京都, 177p.
- 9) 西川哲也・宮原一隆・長井敏: 2000, 播磨灘産大型珪藻 Coscinodiscus wailesii の増殖に及ぼす水温,塩分の影響. 日水誌, 66(6), 993-998.
- 10) 西川哲也・宮原一隆・長井敏: 2002, 播磨灘産有害珪藻 Coscinodiscus wailesii Gran の光強度に対する増殖応答. 日本プランクトン学会報, 49, 1-8.
- 11) 西川哲也・堀豊: 2004, ノリの色落ち原因藻 Coscinodiscus wailesii の増殖に及ぼす窒素, リンおよ び珪素の影響. 日水誌, 70(6), 872-878.
- 12) 長 井 敏: 2000, 播 磨 灘 に お け る 有 害 大 型 珪 藻 Coscinodiscus wailesii の大量発生機構とその予知. 有 害・有毒赤潮の発生と予知・防除 (水産研究叢書 48), 日本水産資源保護協会,東京,pp.71-95.
- 13) 長井敏・眞鍋武彦: 1993, 培養条件下における大型珪藻類の Coscinodiscus wailesii の増大胞子形成. 日本プランクトン学会報, 40, 151-167.
- Egge, J. K. & Aksnes, D. L.: 1992, Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 83, 281-289.
- 15) Whitney, F. A.: 2003, The state of the eastern North Pacific entering spring. PICES Press, 11(2), 8-9.
- 16) 川口修・山本民次・松田治・橋本俊也:2004, 水質 の長期変動に基づく有明海におけるノリおよび珪藻プ ランクトンの増殖制限元素の解明. 海の研究, 13(2), 173-183.

- 17) 西島敏隆・畑幸彦:1997, ビタミン類. 赤潮の科学第 二版(岡市友利編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.213.
- 18) 兵庫県:1998, 地域対象種の系群解析 (大型珪藻 Coscinodiscus wailesii Gran) 報告書. 1-4.
- 19) 鶴田新生・大貝政治・上野俊士郎・山田真知子: 1987, 浮遊珪藻 *Skeletonema costatum*(G rev.)Cleve の増殖 に及ぼす栄養塩類の影響. 日水誌 53(1), 145-149.
- 20) 西島敏隆・深見公雄:1993, ラフィド藻類及び珪藻類. 水域の窒素:リン比と水産生物(吉田陽一編), 恒星社 厚生閣, 東京, pp. 23-24.
- 21) Parsons, T. R., K. Stephens and J. D. H. Strickland: 1961, On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 18, 1001-1016.
- 22) Tada, K., P. Santiwat, K. Ichimi and S. Montani: 2000, Carbon, nitrogen, phos-phorus, and chlorophyll a content of the large diatom, *Coscinodiscus wailesii* and its abundance in the Seto Inland Sea, Japan. *Fisheries Science*, 66, 509-514.